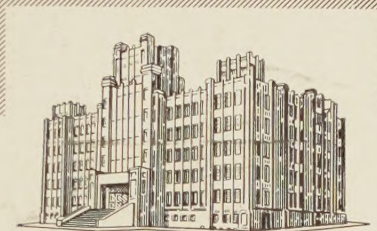


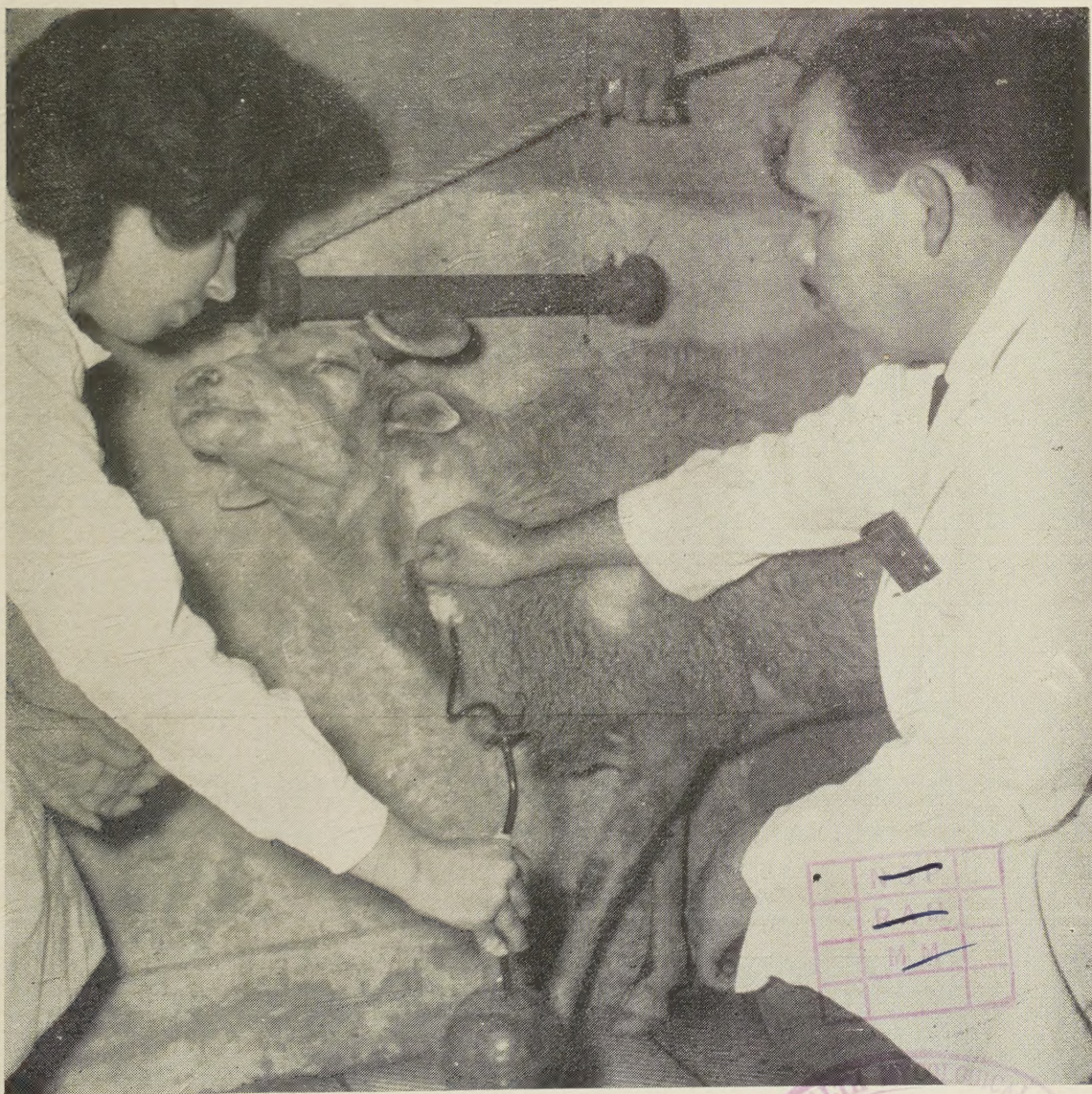
O BIOLÓGICO

Ano 27

Número 11



Novembro 1961



MATE

a saúva

SEM AMUAR
OS FORMIGUEIROS



utilizando o mortífero **Formicida**

MM 33

— extermina a saúva de uma vez

Uma só aplicação para cada 5 m²
extermina na hora os saúveiros

MM 33 é um poderoso formicida líquido
que depois de aplicado se transforma
em mortífero gás. Mais fácil de aplicar,
dispensa máquinas, aparelhos ou fogo.

Eficácia de 100%
comprovada pelo Instituto
Biológico e Cia. Paulista
de Estradas de Ferro.



Aplicado nos
"olheiros" por
meio de prático
funil e tubo de
borracha,
fornecidos GRÁTIS

agora produzido e distribuído pela

agrobras s.a.

R. Benjamin Constant, 158 — 7.º and. — Tel.: 35-4540 — S. Paulo



Consultem os Representantes no Brasil:
ALIANÇA COMERCIAL DE ANILINAS S. A.
Departamento Fitossanitário

RECIFE
Caixa Postal, 942

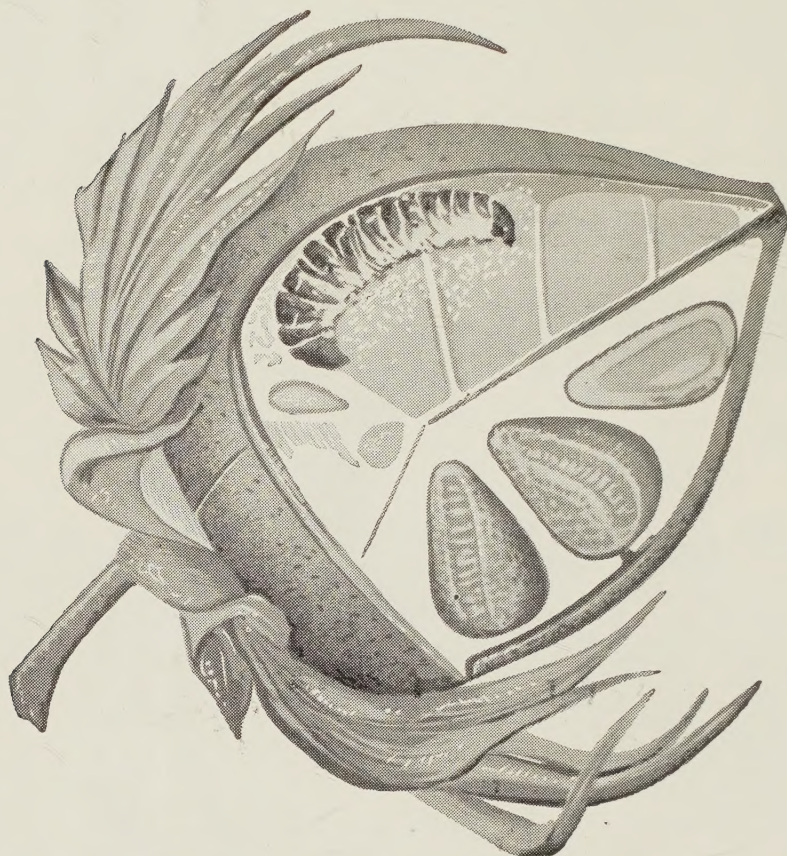
RIO DE JANEIRO
Caixa Postal, 650

SÃO PAULO
Caixa Postal, 959

PORTO ALEGRE
Caixa Postal, 1656

AGORA VOCÊ PODE COMBATER

A LAGARTA ROSADA!



MENKATOL

à base de Sevin *

INSETICIDA EM PÓ PARA ALGODÃO

★ Marca registrada
da Union Carbide Corp. - U.S.A.

22-22
BLEMCO

CRiAR

NÃO IMITAR

foi e será
sempre a meta
sagrada da



Assim surgiram nos laboratórios da



O PARATHION E O INSETICIDA SISTÊMICO

Confie na *"Bayer"*

usando os seus inseticidas...

**FOLIDOL
GUSATHION
METASYSTOX
DISYSTON**

Consultem a

ALIANÇA COMERCIAL DE ANILINAS S. A.

DEPARTAMENTO FITOSSANITARIO

R E C I F E
Caixa Postal 942

RIO DE JANEIRO
Caixa Postal 650

SÃO PAULO
Caixa Postal 959

PORTO ALEGRE
Caixa Postal 1656

proteja sua cultura de

TOMATES

contra

SEPTORIOSE

REQUEIMA

CANCRO BACTERIANO

QUEIMA DAS FOLHAS



**PRODUTO SUIÇO
MUNDIALMENTE FAMOSO
PARA O CONTRÔLE
DAS DOENÇAS DO TOMATEIRO**

SOLICITE INFORMAÇÕES TÉCNICAS DETALHADAS A:

SANDOZ BRASIL S.A.

DEPTO. AGRO-QUÍMICO

RUA BARÃO DE CAMPINAS, 355 - CX. POSTAL 4419 - TEL.: 51-2164 - SÃO PAULO

de acordo com experiências feitas por técnicos particulares e do governo ficou comprovado que o

COBRE- SANDOZ

(óxido cuproso) é o único fungicida que controla eficientemente o cancro bacteriano do tomateiro

O BIOLÓGICO

REVISTA DOS TÉCNICOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO

Publicação Mensal

Diretor — PAULO NOBREGA;
Editor — S. GONÇALVES DA SILVA;
Comissão de Redação — E. R. FIGUEIREDO JR. e W. F. ALMEIDA;
Tesoureiro — A. M. PENHA;
Secretário — W. A. RODRIGUES.

Redação — Avenida Rodrigues Alves, 1.252; Caixa postal 4186; Telefone 70-1163; São Paulo, Brasil.

Número avulso: 20 cruzeiros
Assinatura anual: 200 cruzeiros

Editada pelo Fundo de Pesquisa do Instituto Biológico.

Presidente — PAULO NOBREGA;
Conselheiros: J. R. MEYER e A. C. ANDRADE (Instituto Biológico); A. CERQUEIRA LEITE (Secretaria da Fazenda); PLINIO B. JUNQUEIRA (Sociedade Rural Brasileira); O. DE SOUZA MARTINS (Federação das Associações Rurais do Estado de São Paulo); FERNANDO P. CARDOSO (Federação das Indústrias do Estado de São Paulo).

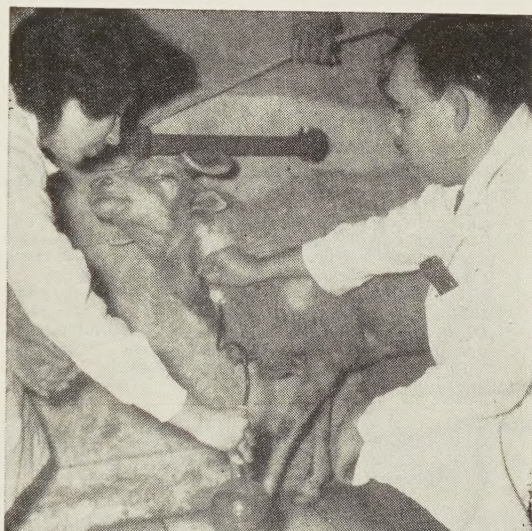
ANO 27

Número 11

Novembro 1961

Sumário

	Pág.
<i>Käthe Schwarz</i> — Cromatografia em papel, uma técnica moderna	259
<i>A. D. Caldas</i> — Avitaminose A espontânea em caprinos	266
<i>J. M. Coutinho, D. Puzzi e A. Orlanço</i> — Emprego do fumigante Fosfina (Hidrogênio fosforado) no combate aos insetos de grãos armazenados	271
<i>W. O. Henrich e J. B. M. Araujo</i> — Experiências para combater "verruca" do cafeeiro com inseticidas sistêmicos	276
NOTAS E INFORMAÇÕES — Programa geral de pulverizações para plantas cítricas	279
Análises de inseticidas e fungicidas nos laboratórios do Instituto Biológico	280
NOTÍCIAS DO INSTITUTO BIOLÓGICO	281



No Setor de Meios de Cultura, da Divisão de Microbiologia e Higiene, são preparados muitos dos materiais utilizados aos estudos biológicos das seções técnicas do Instituto.

A foto mostra a sangria de um carneiro para coleta do sangue destinado a pesquisas de imunologia — como fixação de complemento e outros — e ao preparo de alguns tipos especiais de meios de cultura.

INSTITUTO BIOLÓGICO

Diretor Geral: PAULO NOBREGA

Divisão de Administração — Diretor: L. CAMARINHA FILHO

DIVISÃO DE BIOLOGIA VEGETAL

Diretor A. A. BITANCOURT

Fitopatologia Geral — Vitória Rossetti, J. Abrahão, B. P. Bastos Cruz, Edil D. Pinheiro, Odette Wegmuller, Regina E. T. Mello, Rosa Maria Gayoso, Tauba G. Fassa, Maria K. Musumeci, M. Barreto Figueiredo.

Fungicidas — A. C. de Andrade, C. A. Campacci, J. A. Martinez, L. O. Rezende, N. R. Nobrega, J. M. Sales, Gilda M. M. de Fazio, Cybelle D. N. Pacheco.

Fisiologia Vegetal — K. M. Silberschmidt, Elza Flôres, Marly F. Vicente, Miriam Engelhardt, P. R. Mallozzi, R. Loureiro.

Bioquímica Vegetal — M. Meneghini, Walkyria B. C. Moraes, Tsugui Tomioka.

Bacteriologia Vegetal — J. Franco do Amaral, A. G. Zagatto, A. L. G. Pereira.

Parasitologia Vegetal — J. P. da Fonseca, E. Navajas, E. Amante, J. C. Carvalho, E. Almeida, Tatiana Veinert, Arlete de Bona.

Centro de Estudo do Câncer dos Vegetais — Käte Schwarz, Alexandra P. Nogueira.

DIVISÃO DE DEFESA VEGETAL

Diretor: E. R. FIGUEIREDO JR.

Vigilância Sanitária Vegetal — A. Cotait, A. F. Cintra, J. W. A. Medeiros, A. S. Sampaio.

Assistência Fitossanitária — S. Franco do Amaral, C. F. Oliveira Santos (**Capital**); A. P. Mendes Galvão (**Araçatuba**); O. Nakano (**Araraquara**); A. A. Gregolin (**Assis**); A. C. N. de Castro (**Avaré**); H. Velho (**Bauru**); W. Cunha Stamato (**Bebedouro**); A. Violante Netto (**Botucatu**); S. Silva Mello (**Campinas**); J. Elias (**Marília**); U. Paiva Castro (**Piracicaba**); R. Elias (**Ribeirão Preto**); M. Tomia (**Santo Anastácio**); L. J. Elbel (**Santos**); C. E. Pessenda (**São João da Boa Vista**); A. de Siqueira Campos (**São José do Rio Preto**); A. C. Dias de Toledo (**São Roque**); J. L. Rensi Coelho (**Taubaté**).

Inseticidas — O. Giannotti, A. Orlando, D. Puzzi, M. Fadigas Jr., Antonieta Pigatti, Esmeralda J. R. Mello, N. Suplicy Filho, J. M. Coutinho, P. Pigatti.

Fiscalização Fitossanitária — H. F. Pereira, H. Bitran, J. Hussni.

Química — D. Aguiar Souza, Lais P. Azevedo, L. B. Machado, J. R. Piedade, Sulamita Pen, Maria F. Piedade.

DIVISÃO DE EXPERIMENTAÇÃO AGRÍCOLA

Diretor: SPENCER C. ARRUDA

Entomologia Agrícola — O. Falanghe, G. Calcagno, W. O. Heinrich, N. Dias Netto.

Fitopatologia Aplicada — W. B. Toffano, E. Issa.

Fisiologia Vegetal Aplicada — M. Kramer, L. Leiderman.

Fazenda Experimental — O. A. Mamprim, J. B. M. Araújo, C. Marino, Maria Aparecida N. Nery.

DIVISÃO DE BIOLOGIA ANIMAL

Diretor: JUVENAL R. MEYER

G. Ferraz, R. Macruz.

Anatomia Patológica — P. Castro Bueno N. Monici, A. Pedroso, E. S. Martinelli, Isabel Vasconcellos.

Fisiologia Animal —

Ornitopatologia — R. Castro Bueno, M. Nakano, A. E. F. Zirlis, S. R. Baquer.

Parasitologia Animal — Maria P. Castro, Regina M. C. Bicudo, V. Amaral.

Bioquímica e Farmacodinâmica — M. Rocha e Silva, Silvia O. Andrade, Marilda M. Oliveira, W. V. Camargo, Elizabeth L. Holzhaker, Meire Santos, Maria Regina F. P. Sampaio, Maria C. Farina, F. Simon.

DIVISÃO DE DEFESA ANIMAL

Diretor: ADOLPHO M. PENHA

M. L. Cintra, A. C. Cunha Matos, M. Rios, Maria de Lourdes Santos.

Enzootias — E. E. Trapp, M. R. Nilsson C. L. S. Carvalho, W. Sugai.

Epizootias — P. Augê de Mello, L. Pustiglione Netto, W. Giorgi, M. A. S. C. Portugal, N. S. Fernandes.

Produtos Veterinários — R. Cury, W. Belleza, Henriqueta C. Godoy, R. Sprovieri.

Assistência Veterinária — L. B. S. Amaral, D. Alves Silva, E. Varzim Stumm, D. R. Moreira, F. A. Tupinambá Valente (**Capital**); E. Telles de Menezes (**Andradina**); E. R. Ferreira (**Araçatuba**); C. C. Guadalupe (**Araraquara**); H. M. Miranda (**Assis**); Z. Alves (**Avaré**); W. V. Almeida (**Barretos**); C. A. C. Velloso (**Bauru**); R. Savoi Senna (**Bebedouro**); J. P. Bueno (**Botucatu**); B. Aronovich (**Bragança Paulista**); A. Nesti, L. C. Araújo Cintra, R. E. Villela Lamounier, F. Madureira Rodrigues (**Campinas**); A. V. Coimbra (**Fernandópolis**); J. L. Costa Ribeiro (**Francca**); J. S. Lacaz (**Guaratinguetá**); T. B. Galvão (**Itapetininga**); J. M. Chaves (**Itararé**); G. V. Barros (**Jundiaí**); C. R. Mello Brandão (**Lins**); S. B. Oliveira (**Marília**); W. F. Meirelles (**Mococa**); L. K. P. Santos (**Mogi Mirim**); D. G. Gomes (**Orlândia**); S. L. Calzolari (**Piracicaba**); L. C. Conrado Ribeiro (**Piracununga**); W. Mengato (**Presidente Prudente**); L. A. Rodrigues (**Rancharia**); R. Leonel (**Ribeirão Preto**); W. Nazário (**Rio Claro**); A. E. Ferreira (**Santa Cruz do Rio Pardo**); J. P. Paschoal (**São João da Boa Vista**); H. S. Teixeira (**São José dos Campos**); S. Pinto César (**São José do Rio Preto**); J. Bella Netto (**Sorocaba**); I. França (**Taubaté**); J. Dabus (**Tupã**).

DIVISÃO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE

Diretor: WALDEMAR F. DE ALMEIDA

Higiene Comparada — A. D. Caldas, J. P. Tomanik, D. de Mello, J. C. de Queiroz.

Vírus — P. Mello Freire, Eclea Jurist.

Bacteriologia — C. Troise, C. A. Santa Rosa, A. F. Pestana de Castro.

Imunologia — Maria Siqueira, Maria B. Esteves, O. Suga.

SERVIÇO DE PLANEJAMENTO E DOCUMENTAÇÃO CIENTÍFICA

Diretor: S. GONÇALVES DA SILVA

Planejamento de Experimentos — H. V. Arruda.

Biblioteca — Cecília T. Uchôa Gomes

Desenho — Juvenina Santos

Fotomicrografia —

Cromatografia em papel, uma técnica moderna

Käthe Schwarz

A cromatografia em papel é um método simples para separar as substâncias de uma mistura, por meio de papel de filtro. Foi inventada por volta de 1940 pelos cientistas ingleses Martin, Synge e colaboradores.

Necessitava-se um método fácil, rápido, que exigisse pouco material, para separar os muitos aminoácidos que constituem uma proteína. As técnicas de partição em uso eram demoradas e complicadas. Por isso, depois de outras tentativas, imaginou-se a partição e separação em papel de filtro. O método deu ótimos resultados. Satisfazendo as necessidades do momento, desenvolveu-se e propagou-se extraordinariamente nos 20 anos seguintes. Atualmente é utilizado nos laboratórios científicos e industriais do mundo inteiro. Começou mesmo a ser incluído no ensino universitário de química, como micrométodo analítico de grande sensibilidade e nitidez. Por sua vez, a cromatografia auxiliou grandemente a resolução de problemas da química e bioquímica modernas, como veremos mais adiante.

Teoria e modalidades da cromatografia em papel estão descritos em muitos livros. Apresentamos apenas exemplos de cromatogramas do modo ascendente, de uma só direção e bidimensionais.

Para preparar um cromatograma, corta-se uma tira de papel de filtro, de preferência Whatman n.º 1 ou 4, de aproximadamente 3 cm de largura e 25 até 30 cm de comprimento. Coloca-se a solução com as substâncias a separar a uma distância de 3 cm de uma extremidade, no centro de um círculo de 5 mm de

diâmetro (fig. 1). A aplicação é feita com pipeta capilar, ou micropipeta, e corresponde a 3 — 4 μ l (1 μ l = 0,001 ml). Se a solução contém 1% de uma substância, a quantidade aplicada será de 40 μ g por gota (1 μ g = 0,001 mg). Os limites do método estão entre 1 e 100 μ g, pois, em geral, quantidades maiores não são bem separáveis no papel (deixam "rabo") e as menores do que 1 μ g não se revelam. Se quisermos, contudo, aplicar mais material, colocamos uma gota sobre a outra, já seca. Depois da aplicação, a tira é introduzida numa vasilha cilíndrica, cujo fundo contém cerca de 50 ml de um solvente e segura-se a

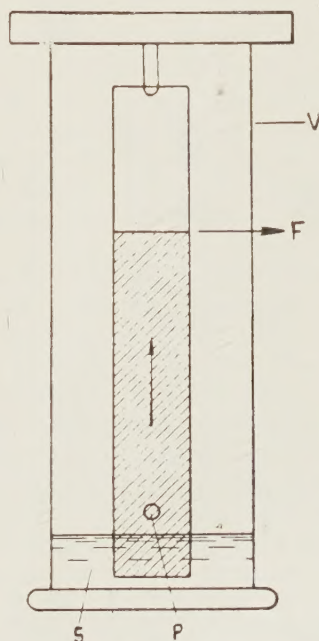


Figura 1 — Método ascendente: P — ponto de partida; S — solvente; F — frente; V — vasilha.

fita pela extremidade superior (por exemplo, com um gancho fixado na tampa da vasilha) (Fig. 1). A outra extremidade, perto da qual foi aplicada a solução, será mergulhada no solvente, que começa logo a subir pelo papel, levando consigo as substâncias. O solvente necessita de algumas horas, até que sua frente chegue a uns 20-25 cm da linha

de partida. Para assegurar condições uniformes durante a operação, a vasilha é saturada com os vapores do solvente e é conservada bem fechada. O cromatograma, depois de percorrida a distância desejada, é retirado da vasilha e secado no ar ou por uma fonte de calor (lâmpada infravermelha, ou estufa).

Localização:— Em geral, as substâncias não são visíveis, são incolores. Para localizá-las, inspecionamos os cromatogramas sob lâmpadas ultra-violeta, revelando-se muitas substâncias por fluorescência, outras por absorção, aparecendo como manchas escuras no fundo mais claro e fluorescente do papel de filtro. Substâncias que não se reconhecem assim, devem ser reveladas pela pulverização do cromatograma com reagentes que dão reações coloridas específicas (fig. 2). Além dos reagentes que identificam determinadas substâncias, usam-se indicadores gerais que revelam todas as substâncias ácidas ou todas alcalinas, etc.

Nos começos da cromatografia utilizavam-se *solventes orgânicos*, bifásicos, com fase orgânica e aquosa, como n-butanol/água ou fenol/água e outros, todos de andamento lento. Com tais solventes corriam-se cromatogramas compridos (até talvez 40 cm), com andamento durante 24 horas ou, pelo menos, durante as 16 horas da noite. A separação das substâncias é devida a sua solubilidade individual diferente na fase orgânica e na aquosa. Escolhe-se um solvente em cujos componentes as substâncias não sejam muito solúveis, pois, se fôssem, subiriam indiscriminadamente até a sua frente. Num cromatograma bem sucedido, cada substância tem sua velocidade própria de migração e forma uma mancha distinta e separada (fig. 2). A relação entre a migração da substância e a da frente do cromatograma chama-se R_f .

$$R_f = \frac{\text{a distância percorrida pela substância}}{\text{a distância percorrida pelo solvente}}$$

O R_f de uma substância representa uma constante (nas condições da experiência) e serve para caracterizá-la, como um ponto de fusão ou de ebulição.

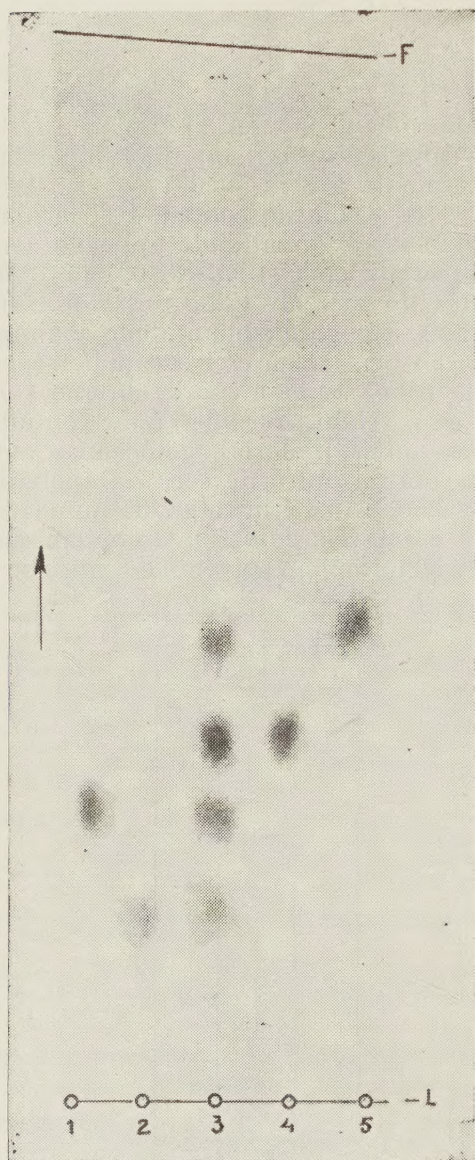


Figura 2 — Cromatograma ascendente de 4 açúcares: 1 — glucose; 2 — maltose; 3 — mistura; 4 — xilose; 5 — ramnose.

Solvente: butanol/ac. acético; revelador: ftalato de anilina.

L — linha de partida; F — frente do cromatograma.

Os mencionados cromatogramas lentos e compridos têm, além de certos inconvenientes, a vantagem de aumentar a distância entre os Rf e de tornar bem redondas e nítidas as manchas devido ao andamento lento. Apesar disto passou-se, ultimamente, a usar outros solventes aquosos, monofásicos e rápidos, como tampões, soluções diluídas de sais, ácidos diluídos, etanol e metanol com pequena percentagem de água, e até água com o ambiente saturado de vapores ácidos ou alcalinos. Consegue-se assim um andamento de 20-30 cm em 3 ou 4 horas.

Êstes cromatogramas rápidos e curtos têm a vantagem de interferir menos com as substâncias a separar, de economizar tempo e material dando assim mesmo boa separação para muitos grupos de substâncias. Supõe-se, no caso dos solventes monofásicos, que a separação se dá pela partição entre o solvente circulando livremente e a parte adsorvida ao papel de filtro. Com esta adsorção ou mesmo ligação, o papel de filtro deixa de ser o suporte inerte, que se supunha, e a escolha do papel adquire importância.

Quando não se consegue a separação das substâncias, por serem os Rf muito próximos ou idênticos, emprega-se com vantagem a *cromatografia bidimensional* em cromatogramas curtos (cêrca de 20 x 20 cm). Depois de percorrida a primeira cromatografia, seca-se o cromatograma, e, girando em 90°, deixa-se corrê-lo outra vez com solvente diverso, de modo que as manchas separadas na primeira servem agora de base para a segunda direção. As substâncias que têm um mesmo Rf na primeira dimensão, — ficando pois num mesmo lugar —, separam-se na segunda, usando um solvente diferente. Esta técnica emprega-se especialmente na separação dos aminoácidos (Fig. 3).

O uso da cromatografia para a *identificação de substâncias* exige cuidados especiais. O Rf de uma substância em determinado solvente além de ser constante, depende da temperatura, saturação do ambiente etc., de modo que para identificação, é necessário correr junto sempre uma substância padrão (fig. 2). Se a substância desconhecida



Figura 3 — Cromatograma bidimensional de uma mistura de 10 aminoácidos. Solventes: I — fenol/água; II — sec. butanol/ác. fórmico/água, revelador: ninhidrina.

tiver o mesmo Rf que a substância padrão, em diferentes solventes (ácidos e alcalinos), em cromatografia uni- ou bidimensional, dando as mesmas reações e a mesma fluorescência ou absorção no ultra-violeta, etc., então serão, provavelmente, idênticas. Para maior certeza, colocam-se na linha de partida, lado ao lado, 1) a substância a identificar, 2) a mesma e, por cima, a substância padrão, 3) a substância padrão. Outros métodos de identificação seriam: a eluição das manchas cromatográficas, submetendo o eluído a métodos sensíveis ou micrométodos como ensaios biológicos, espectrofotometria, eletroforese em papel, cristalização. Para tais fins não se aplica a substância num ponto só do cromatograma, mas numa linha de alguns centímetros, obtendo assim maior quantidade de material.

Para avaliação semi-quantitativa das manchas existem vários métodos:

comparação do tamanho da mancha, da intensidade em prova colorida ou de sua fluorescência com um padrão de quantidade conhecida.

Em nosso Centro de Estudos usou-se a cromatografia também para outra finalidade, a de estudar substâncias instáveis (18). Para reduzir a decomposição durante a cromatografia (que resultaria num rabo, impedindo a distinção das manchas), correram-se cromatogramas curtos, de somente 10 cm, usando um solvente brando (água em vasilha saturada com vapores de ácido acético); trabalhou-se no escuro e à baixa temperatura. A figura 4 mostra cromatografia de 3 ácidos pirúvicos aromáticos, substâncias de importância no metabolismo das plantas como dos animais. Pertencem ao grupo instável dos cetoácidos, os quais encontram-se sempre num equilíbrio de duas formas tautoméricas, o chamado "equilíbrio ceto-enólico". Vê-se que a cromatografia unidimensional separa as duas formas

(figura 4, A), separando cada ácido em pelo menos duas manchas. As manchas número 2 foram identificadas como sendo as formas enólicas e as número 4 como sendo as formas cetônicas dos 3 ácidos (17). A identificação fez-se de três maneiras: por provas coloridas específicas; por eluição das manchas do cromatograma, estabelecendo as curvas de absorção dos eluidos no ultra-violeta que são característicos, tarefa difícil por causa da labilidade do equilíbrio; a terceira técnica de identificação foi a cromatografia dupla (7b, 17, 19).

Na cromatografia dupla (figura 4 B), modificação da cromatografia bidimensional, usa-se o mesmo solvente na primeira e na segunda direção. As manchas separadas pela primeira cromatografia servem, deste modo, como linha de partida para uma segunda, com o mesmo solvente, na qual, sendo instáveis as substâncias, irão se repetir as mesmas seqüências. Na figura 4, parte direita do cromatograma duplo — que

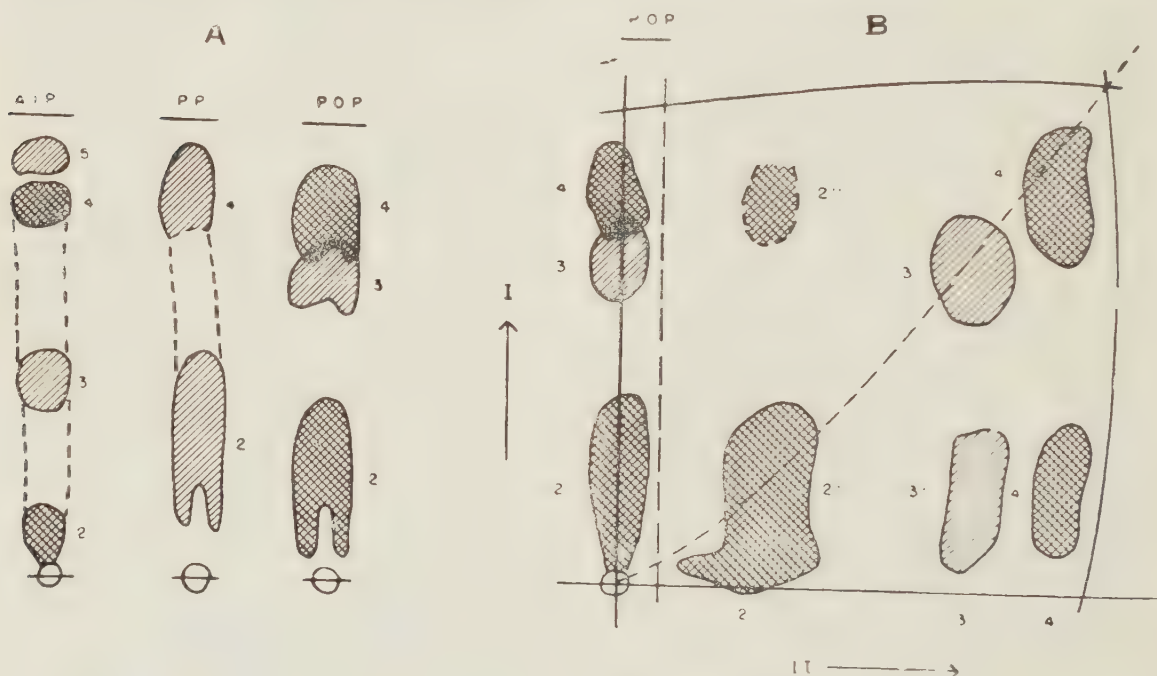


Figura 4 — Cromatografia de 3 ácidos pirúvicos: AIP-indolpirúvico; PP-fenilperúvico; POP-p.hidroxifenilpirúvico.

A — Cromatograma unidimensional dos ácidos: revelação: pela fluorescência ou absorção das manchas no U. V. solvente: água, em vasilha saturada de vapores de ácido acético.

B — Cromatograma duplo de POP: parte esquerda — depois da cromatografia I; parte direita — depois da cromatografia II; revelação no U. V.; solvente nas duas direções: o mesmo que em A.

As manchas fora da diagonal são produtos de decomposição.

representa a segunda direção, — vê-se repetido, a partir de cada uma das manchas, 2 e 4, o desdobramento que se deu na primeira direção (parte esquerda do cromatograma). Confirma-se assim a presença de um equilíbrio. No mesmo cromatograma (parte direita) vemos, na sequência saída da mancha 2, como produto de decomposição, a mancha 3', tendo o mesmo Rf e identificada com a mancha 3, a qual provém da cromatografia na primeira direção (parte esquerda do cromatograma). Esta parte, como era de esperar, é semelhante ao cromatograma unidimensional de POP. Neste e no cromatograma de AIP, encontramos manchas de decomposição com reações aldeídicas identificadas também como tais pelos seus espectros no ultravioleta, — manchas que numeramos com 3. Assim, resumindo, a figura 4 A mostra um comportamento de grupo: o desdobramento dos três ácidos em suas formas tautômeras, e um produto de decomposição aldeídico provindo da cadeia pirúvica, que os três ácidos têm em comum. (Um aldeído foi encontrado, de outra maneira, também para o ácido PP). Enquanto isto, o cromatograma duplo, parte direita, permite constatar que este aldeído (3') provém da mancha 2 (forma enólica), pois ele se encontra somente na sequência saída desta substância (17). A cromatografia dupla, neste caso ajuda o estudo da decomposição deste grupo de substâncias. As substâncias presentes no ponto de partida do cromatograma duplo devem se encontrar na diagonal (traçada com linha interrupta), pois, usando o mesmo solvente nas duas direções, as substâncias terão o mesmo Rf nas duas cromatografias. As manchas situadas aos dois lados desta linha serão produtos de decomposição ou de desdobramento (18).

Aplicação da cromatografia em papel no Instituto Biológico

No Instituto Biológico, a primeira aplicação de cromatografia em papel se fez em 1948 na Secção de Bioquímica e Farmacodinâmica por Sylvia de Andrade, para elucidar a constituição da bradiginina (1, 3, 16). Esta técnica também

foi utilizada na análise quantitativa de aminoácidos da edestina (8), dos aminoácidos do quimotripsinogeno (21), separação de radiosótopos (Fausto Lima), identificação do princípio ativo do veneno de vespa (Ulla Hamberg) e para identificação do polipéptido responsável pelo choque peptônico (12). Últimamente veio sendo usada para identificar substâncias responsáveis pela toxicidade de certas plantas (2, 14).

Na Secção de Inseticidas, a cromatografia em papel tem sido usada para estudos relativos à conversão do Aldrin e Isodrin em suas formas epoxis Dieldrin e Endrin e outra substância de degradação desses inseticidas, no organismo dos insetos (9, 11). Foi possível verificar que essa conversão se processaria, provavelmente no tubo digestivo dos insetos. Essa técnica também tem sido útil na determinação de resíduos de inseticidas tanto clorados como fosforados, em vegetais e no solo, (15, 15a). Finalmente, por meio dela tem sido possível a micro-determinação dos metabólitos ativos de alguns inseticidas sistêmicos, o que vem prestar grande auxílio no estudo bioquímico dessas substâncias nas diferentes espécies de vegetais (10). A cromatografia se fez, empregando tiras de papel de 17 cm, com largura de 1,5 cm numa extremidade e 2,5 cm na outra, em tubos de ensaios de 20 cm, d = 2,5 cm, fechados com rolha.

Em nosso grupo, Centro de Estudos sobre o Câncer dos Vegetais, a cromatografia foi aplicada para o estudo de substâncias de crescimento. Primeiro para a identificação da auxina ácido indolacético e de outros derivados auxínicos em extratos de tecidos vegetais de tumor e normais. A identificação se fez pela prova de crescimento de Bonner, e por ensaios coloridos e fluorescência (6, 20). Em seguida fez-se um estudo cromatográfico de diversos derivados indólicos, possíveis precursores ou produtos de decomposição do ácido indolacético, caracterizando-os pelos seus Rf, provas coloridas, espectros de absorção no ultra-violeta e por uma combinação de eletroforese e cromatografia em papel (7 a, b e c). Submeteram-se à

cromatografia soluções de AIA decompostas pela luz ultra-violeta ou por envelhecimento, fazendo a cromatografia em condições especiais, em níveis diferentes de pH (4). Uma substância especialmente instável e irregular o ácido indolpirúvico, precursor do ácido indolacético, foi estudada pela maneira já descrita e comparada com outros ácidos pirúvicos (17, 19). Foi possível tirar destas pesquisas cromatográficas conclusões sobre o comportamento das substâncias e até sobre seus caminhos alternados de decomposição (5).

Na Secção de Bioquímica Vegetal a cromatografia foi empregada para demonstrar a transformação de 2-tiouracil em uracil, causada pelo tratamento com ácido (13). Atualmente é usada em pesquisas sobre a incorporação do tiouracil no ácido nucléico do vírus do mosaico de fumo e em microsomas vegetais; assim como no estudo da ação de agentes mutagênicos sobre as bases da purina e pirimidina (trabalho em andamento). Usou-se a cromatografia bidimensional com o solvente butanol-ter/ácido clorídrico/água na primeira, butanol-n/ácido acético glacial/água na segunda direção. Com esta técnica foi possível, não só, separar os componentes normais do ácido nucléico como também o 2-tiouracil.

Viu-se, que a cromatografia em papel serve para muitas finalidades, tanto simples como elaboradas. Convém lembrar que ajudou grandemente a elucidação da estrutura de macromoléculas. Os mapas de aminoácidos (semelhantes à figura 3) ajudaram a estabelecer a estrutura da insulina e da enzima ribonuclease, tarefas formidáveis e extremamente difíceis. A cromatografia auxiliou também o estudo da constituição dos ácidos nucléicos, dos polissacarídeos das porfirinas e de outros grupos complicados. Teve papel importante no estudo da fotossíntese, revelando substâncias intermediárias existentes em quantidades mínimas, teve parte na separação e análise dos alcalóides do curare, no estudo das auxinas, substâncias instáveis que se encontram nas plantas em concentração muito pequena, e em muitos outros assuntos.

Resumindo, a cromatografia em pa-

pel é um método engenhoso e adaptável, com soluções de simplicidade por vezes espantosa, para problemas da ciência moderna.

BIBLIOGRAFIA

- 1 -- ANDRADE, SYLVIA O. — 1948 — Análise cromatográfica em papel de filtro de misturas de aminoácidos e hidrolisados de proteínas — *Ciência e Cultura* 1:183.
- 2 -- ANDRADE, SYLVIA O. — 1960 — Estudos sobre a toxicidade da *Sesaea brasiliensis*. Toledo. *Arg. Inst. Biol.* S. Paulo, 27:191.
- 3 -- ANDRADE, SYLVIA O., C. R. DINIZ & M. ROCHA E SILVA — 1952 — Assay of purification of bradykinin by chromatography. *Arch. Intern. Pharmac. Therap.* 95:192.
- 4 -- BITANCOURT, A. A. & A. P. NOGUEIRA — 1959 — Multiple pH levels in chromatograms — *Science* 129:99.
- 5 -- BITANCOURT, A. A., A. P. NOGUEIRA & K. SCHWARZ — 1961 — Pathways of decomposition (Catabolic lattice) of indole derivatives 4th Internat. Conf. on Plant Growth Regulation, Iowa Press.
- 6 -- BITANCOURT, A. A., K. SCHWARZ & R. DIERBERGER — La nature des auxines des tumeurs végétales — *Compt. r. Soc. Biol.* 148:822.
7. — BITANCOURT, A. A., K. SCHWARZ & A. P. NOGUEIRA — 1957 — A decomposição espontânea de alguns derivados indólicos I e II. a) *Arg. Inst. Biol. S. Paulo* 24:169; b) 24: 183; c) idem — 1959 — III — *Arg. Inst. Biol.* 26:1-10.
- 8 -- DINIZ, C. R. & REGINA C. VIANNA — 1950 — Amino-ácidos: cromatografia quantitativa em papel — *Ciência e Cultura* 2:299.
- 9 -- GIANNOTTI, O. — 1958 — Estudos sobre o mecanismo de ação do aldrin, dieldrin, isodrin e endrin em *Periplaneta americana* — *Arg. Inst. Biol.* S. Paulo 25:253.
- 10 -- GIANNOTTI, O. & L. MARQUES DE SÁ — 1959 — Novo método colorimétrico para a localização, na cromatografia em papel, de inseticidas do grupo dos ésteres do ácido tiofosfórico. *Arg. Inst. Biol.* S. Paulo 26:131.
- 11 -- GIANNOTTI, O., R. L. METCALF & R. B. MARCH — 1956 — The mode of action of aldrin and dieldrin in *Periplaneta americana* (L) — *Ann. Ent. Soc. Amer.* 49:588.
- 12 -- HOLZHACKER, E. L. & M. ROCHA E SILVA — 1957 — Fraçãoamento da peptona por cromatografia em resina iônica. *Ciência e Cultura* 9:168.
- 13 -- MORAES, WALKYRIA B. C. & M. MENEGHINI — 1961 — Ação dos processos empregados na hidrólise do ácido ribonucleico sobre o 2-tiouracil. *Arg. Inst. Biol.* (no prelo).
- 14 -- OLIVEIRA, MARILDA M. & SYLVIA O. ANDRADE — 1961 — A toxic saponin in *Elvira biflora* — *J. Am. Pharm. Ass. Sci. Ed.* (no prelo).
- 15 -- PIGATTI, A. & O. GIANNOTTI — 1956 — Determinação biológica do BHC (isomero gama)

- em solos de lavouras de café, tratadas com esse inseticida, e sua confirmação por cromatografia em papel. *Arq. Inst. Biol. S. Paulo* 23:101-107.
- 15a - PIGATTI, A. e J. F. DO AMARAL — 1960 — Determinação de resíduos em cogumelos tratados com inseticidas. *Arq. Inst. Biol. S. Paulo* 27:35-41.
- 16 — ROCHA e SILVA, M., M. W. BERALDO & SILVIA O. ANDRADE — 1949 — On a new hypotensive and smooth muscle stimulating factor bradykinin liberated from plasm globulin by snake venom and by trypsin — *Proc. Intern. Biochem.*, Cambridge.
- 17 - SCHWARZ, K. — 1961 — Separation of enol and keto tautomers of aromatic pyruvic acids by papel chromatography. *Arch. Biochem. Biop.* 92:168.
- 18 - SCHWARZ, K. & A. A. BITANCOURT — 1957 — Paper chromatography of unstable substances — *Science* 126:607.
- 19 - SCHWARZ, K. & A. A. BITANCOURT — 1960 — Further evidence of tautomerism in chromatograms of indolyl-3-pyruvic acid. *Biochem. J.* 75:182.
- 20 - SCHWARZ, K., R. DIERBERGER & A. A. BITANCOURT — 1955 — A natureza química das auxinas de alguns tecidos vegetais normais e tumorais. *Arq. Inst. Biol.* 22:93.
- 21 - VIANNA, REGINA C. & C. R. DINIZ — 1950 — Composição em amino-ácidos do quimotripsinogênio — *Ciência e Cultura* 2:299.

AUMENTO DE PREÇO DO "O BIOLÓGICO"

Em consequência do acréscimo no custo do papel de impressão, dos serviços gráficos e das tarifas postais para expedição dos exemplares de assinatura, esta revista vê-se na contingência de aumentar o preço de sua assinatura para 200 cruzeiros e do número avulso para 20 cruzeiros. Mesmo sem visar lucro, esta publicação precisa obter receita para completar a subvenção que recebe do Fundo de Pesquisas do Instituto Biológico e esta é a única maneira de obtê-la.

Avitaminose A espontânea em caprinos

A. D. Caldas

Os animais herbívoros têm no verde a sua maior fonte de carotenos e por conseguinte de vitamina A. Assim sendo, o fornecimento inadequado desta vitamina a esses animais ocorre, principalmente, durante as ocasiões de pastagens secas ou de arraçoamento deficiente em carotenos ou vitamina A. Nos herbívoros criados em condições nas quais a alimentação depende exclusivamente de pastos, obviamente, o suprimento de vitamina A está ligado diretamente à qualidade das pastagens.

Há muito tempo, os sintomas dessa avitaminose têm sido observados no campo, especialmente nos períodos de estiagem prolongada, e desde os tempos bíblicos os sinais da deficiência de vitamina A eram conhecidos: "aos animais falhavam os olhos, porque não havia pastagens" ou ainda "Seus olhos perderam o brilho, pois que os pastos se extinguíram" (Jeremias, 14:6).

Nos caprinos, a deficiência desta vitamina, nas condições práticas de criação, raramente tem sido observada por que estes animais, ao lado dos bovinos, são os que possuem as maiores reservas de vitamina A no fígado — cerca de 565 u.i./g (4). Assim sendo, há necessidade de longos períodos de regimes carenciais, ou seja, períodos prolongados de estiagem, com pastos secos consequentemente, sem verde, para que os caprinos possam entrar em avitaminose A. Este fato se refere aos animais adultos, que têm no verde a sua fonte de carotenos. Já os cabritos têm um comportamento diverso dos caprinos adultos. As reservas de vitamina A nos caprinos jovens estão muito abaixo dos níveis encontrados nos adultos: cerca de 66 u.i./g de fígado, ou

seja, cerca de 10 vezes menos do que nos adultos. Por outro lado, logo após o nascimento dos cabritos, os níveis extremamente baixos de vitamina A no sangue e no fígado são rapidamente elevados pela ingestão do colostro nos primeiros dias de vida. Assim, é evidente, que sendo para eles o colostro e depois o leite materno as únicas fontes dessa vitamina, os cabritos ficam na dependência direta de uma amamentação adequada, tanto quantitativa como qualitativamente, a fim de não entrarem em avitaminose A. Deve-se esperar, portanto, que em uma criação de caprinos em regime deficiente em vitamina A, sejam os animais jovens os primeiros a apresentar os sintomas dessa avitaminose.

De acordo com as observações dos poucos trabalhos existentes sobre a avitaminose A em caprinos, sempre em casos experimentais, os sintomas mais referidos foram (3): cegueira noturna, urolitíase, perda de peso e anorexia. Também em carneiros existe somente uma única citação na literatura da ocorrência de avitaminose A espontânea, (2) relatando o aparecimento de sintomas característicos em 50 cordeiros de uma criação de 100 animais (que se encontravam sob um regime de estabulação total por 10 semanas, sem verde) e apenas comprovando a moléstia por um diagnóstico terapêutico. Os principais sintomas observados foram: opacificação bilateral da córnea e da conjuntiva com lacrimação ligeira (querato-conjuntivite), exoftalmia, midriase total, amaurose e cegueira (2). A deficiência experimental em carneiros já foi descrita por vários autores (1). Os sintomas en-

ção, mais observados, foram: cegueira noturna, pneumonia, enterite, lesões nos rins, perda de apetite, incoordenação muscular, excitação, pica, caquexia e morte. Em geral, nessas experiências, o nível normal desta vitamina no plasma sanguíneo, que é cerca de 100 u.i./100 ml, cai para a ordem de 30 u.i./100 ml, após 5 a 6 meses de depleção, quando começam a aparecer os sintomas acima descritos.

A manifestação clássica da avitaminose A na espécie humana é a xeroftalmia. Daí a origem da antiga denominação dessa vitamina: vitamina anti-xeroftálmica. Entretanto, em relação a essa manifestação ocular da avitaminose A acontece com os animais um fato muito curioso. Mesmo em reproduções experimentais da doença, em geral somente o rato branco e o coelho apresentam lesões que podem ser relacionadas à típica xeroftalmia do homem. Habitualmente nos animais domésticos, em casos experimentais ou espontâneos de avitaminose A, raramente se encontra o quadro característico de xeroftalmia. Esta manifestação típica desta avitaminose no homem apresenta a seguinte evolução: secamento da conjuntiva (xerose) que se estende à córnea; esta se encarquilha e se necrosa com ulceração e muitas vezes com perfuração; atinge-se assim o estágio conhecido como queratomalácia, que frequentemente se complica com infecção secundária; aparece fotofobia, a conjuntiva se torna vermelha e turgida (inchada) com corrimento ocular; a infecção e a inflamação atingem o interior dos olhos havendo algumas vezes extrusão do cristalino. Enfim, os globos oculares são completamente destruídos, com cegueira irreversível. Já nos animais domésticos, esse quadro habitualmente não ocorre. Em vez de xerose (secamento) há um lacrimejamento abundante dos olhos e as lesões consequentes mais encontradas consistem apenas em uma opacidade da córnea, mais raramente exoftalmia e catarata. Nestes animais, as manifestações oculares devidas à avitaminose A, mais raramente levam à cegueira irreversível. Por outro lado, a hemeralopia (cegueira noturna), que é o primeiro estágio da manifestação ocular da avitaminose A

no homem, ocorre também com grande frequência em todos os animais.

Outra consequência da avitaminose A nos animais domésticos, poucas vezes referida é o aparecimento de abortos em série. A expulsão do feto, em geral, pouco antes do parto normal, tem sido descrita em bovinos e suínos.

No presente trabalho descrevemos a ocorrência da avitaminose A espontânea em caprinos, em uma fazenda no interior do Estado de São Paulo, com incidência de abortos em série nas fêmeas adultas e de lesões oculares nos animais lactentes. De acordo com a nossa literatura e a internacional que pudemos compulsar, esta é, possivelmente, a primeira observação da ocorrência de avitaminose A espontânea em caprinos.

Observações clínicas

Durante os meses de maio e junho de 1958, em uma criação de 223 caprinos, com cerca de 130 cabras prenhes, ocorreram 32 casos de abortos, quase todos de fetos a termo. Na fazenda, fomos informados que, apesar desses casos de abortos, outros 65 cabritos nasceram normalmente e que 7 cabras abortantes haviam morrido.

Inicialmente, observamos que a quase totalidade dos cabritos da criação apresentava diarreia, um discreto lacrimejamento e uma opacidade muito acentuada das córneas. Esta opacidade, bilateral, de tonalidade cinza azulada, dava a impressão de uma queratite. Estes cabritos apresentavam nítida cegueira em consequência deste último sintoma. Observamos também um corrimento vaginal copioso nas cabras abortantes e uma diarreia profusa. Pudemos, por felicidade, surpreender um caso de aborto duplo, e um outro de um feto. Os três fetos, com cerca de 3 meses, já formados, não apresentavam qualquer má formação aparente.

Em relação ao sistema de criação pudemos observar que as cabras eram criadas em regime extensivo e que naquele ano o período de estiagem na região ia para mais de 6 meses. O pasto constituído de capim catigueiro e jaraguá estava completamente seco. A

ausência de verde era total. Anotamos também que, em virtude do desinteresse do proprietário pela criação, esta não recebia qualquer arraçãoamento e os animais andavam quilômetros afora em busca de pastagens mais verdes. A falta de alimento era tão evidente que os animais além de se encontrarem em estado de magreza acentuado, a produção de leite das 103 cabras em lactação consistia apenas em cerca de 5 litros, excluindo-se a pequena quantidade que os cabritos mamavam.

Observações de laboratório

Foram efetuados os seguintes exames para elucidação da causa da moléstia: 1 — *Provas para diagnóstico da Brucelose*: Soro-aglutinação lenta efetuada nas 103 cabras em lactação; prova do anel executada em mistura de leite de cada 10 cabras; inoculação em cobaias de creme destas mesmas amostras de leite; inoculação em cobaias do conteúdo estomacal e de macerado de baço e fígado dos 3 fetos abortados; inoculação em cobaias do corrimento vaginal e de macerado de placenta das cabras abortantes.

2 — *Provas para diagnóstico de Leptospirose** — Soro aglutinação para as principais espécies de *Leptospira*, efetuada em 22 cabras abortantes; inoculação intraperitonal em cobaias novas de macerado de rim, fígado e baço dos 3 fetos abortados.

3 — *Exame microscópico direto* — Foi efetuado no material do conteúdo estomacal dos 3 fetos, para pesquisar especialmente *Vibrio*; e também no corrimento vaginal das cabras, para verificação de *Trichomonas*.

4 — *Dosagem de vitamina A*** — Foi executada no soro sanguíneo de 22 cabras abortantes e de cabras normais pelo método do tricloreto de antimônio.

Resultados

Os exames 1, 2 e 3 foram todos negativos o que permite excluir a presença de brucelose, leptospirose, vibriose e tricomonose.

A dosagem da vitamina A efetuada nos séros de 22 cabras abortantes, revelou inexistência dessa vitamina em todas as amostras. Entretanto, em 24 cabras normais, não pertencentes a esta criação, bem alimentadas, com suprimento de verde a vontade, a média de vitamina A no soro sanguíneo foi de 509,6 u. i./100 ml (Tabela I).

Tabela I — Dosagem de vitamina A no soro sanguíneo de cabras normais (método do tricloreto de antimônio).

SORO N.º	u. i. VITAMINA "A" POR 100ml
1	958
2	1.917
3	360
4	260
5	239
6	572
7	127
8	717
9	336
10	198
11	1.200
12	224
13	826
14	1.127
15	280
16	177
17	54
18	358
19	534
20	215
21	239
22	298
23	537
24	477

Média 509,6

Discussão e conclusões

Considerando os sintomas descritos nas observações clínicas e os resultados obtidos pelos exames de laboratório, conclui-se que a criação de caprinos em estudo apresentava avitaminose A espontânea. Entre os sintomas observados, chamamos a atenção, mais espe-

(*) Exames gentilmente efetuados pelo Dr. V. O. Guida, da Secção de Bacteriologia do Instituto Biológico.

(**) As dosagens de vitamina A foram gentilmente efetuada pela Dra. Célia Machado Silva, do Departamento da Produção Animal (S32 — Dra. H. M. Teixeira e Silva).

cialmente para a diarreia e para a opacidade bilateral da córnea, presentes na maioria dos cabritos. Como já nos referimos no início deste trabalho, os animais jovens, especialmente os lactentes, têm no colostro e no leite materno a maior fonte de vitamina A. Assim sendo, as cabras adultas, mantidas em regime absolutamente deficiente em verde e mesmo em regime de fome, estavam incapacitadas de transferir através do colostro e do leite, a quantidade adequada de vitamina A necessitada pelo cabritos.

Quanto aos animais adultos, apesar de serem muito resistentes à falta de vitamina A, pelas reservas que possuem, o regime de carência a que foram submetidos, por falta de verde, foi tão prolongado, que determinou a ocorrência da avitaminose A e consequentes abortamentos. É provável que estes decorreram de um descolamento da placenta em virtude de uma queratinização da camada epitelial.

O diagnóstico diferencial efetuado, permitiu a exclusão de brucelose, leptospirose, vibriose e tricomonose como causa dos abortamentos. A ausência de vitamina A no soro sanguíneo das cabras confirmou o diagnóstico. Entretanto, executamos, paralelamente, pelo mesmo método, o doseamento da vitamina A em 24 cabras normais, bem alimentadas, com verde à vontade, pertencentes a outra criação. Nestas, o teor de vitamina A foi, em média, de 509,6 u. i./100 ml. de soro sanguíneo (Tabela I).

Podemos, pois, concluir que as cabras da criação em estudo estavam com suas reservas de vitamina A completamente exauridas, o que explica não só os sintomas descritos, como também a morte de vários animais por caquexia.

É interessante relatar, que também pudemos chegar, além do mais, a um diagnóstico terapêutico. A um simples arração apropriado dos animais desapareceram por completo todos os sintomas de avitaminose A, tanto nas cabras adultas como nos cabritos.

Resumo

Relata-se neste trabalho a ocorrência da avitaminose A espontânea em uma criação de 223 caprinos de uma fazenda no interior do Estado de São Paulo. Os principais sintomas observados foram: 32 casos de abortos nas cabras adultas, aparecimento de opacidade bilateral na córnea dos animais lactentes, e diarreia, tanto nas cabras como nos cabritos.

Essa avitaminose ocorreu em virtude de alimentação deficiente das cabras criadas em regime extensivo, com pastagens secas, sem verde, em virtude de um período de estiagem de cerca de 6 meses.

Exames de laboratório, para diagnóstico diferencial, permitiram excluir a brucelose, a leptospirose, a vibriose e a tricomonose.

As dosagens de vitamina A, pelo método do tricloreto de antimônio, no soro sanguíneo de 22 cabras abortantes, revelaram ausência desta vitamina em todas as amostras. Em contraposição as dosagens no soro sanguíneo de 24 cabras normais, bem alimentadas, e com verde à vontade, indicaram um teor médio de vitamina A, de 509,6 u. i./100 ml. (Tabela I).

Os sintomas da avitaminose A, tanto nos adultos como nos cabritos, desapareceram em seguida a um arração adequado.

Summary

SPONTANEOUS AVITAMINOSIS A IN GOATS

The occurrence of a spontaneous avitaminosis A in a goat flock is described. The main symptoms observed were: diarrhea and epizootic abortions in adult females; diarrhea, lachrymation, and opacity of the cornea in the kids.

Laboratory tests for brucellosis, leptospirosis, vibriosis and trichomoniasis were 100% negative.

By the assay of vitamin A (antimony trichlorid method) in the blood sera of 22 female goats which had aborted, it was found no vitamin at all. On the

other hand, the vitamin A assay in the blood sera of 24 normal goats (well fed on green pasture, at will) gave an average of 509.6 i.u./100 ml.

This avitaminosis was due to deficient feed, the animals being kept on dry pasture without green grass for a six months period of dry weather.

These avitaminosis A symptoms in the goats and kids disappeared after the administration of an appropriate ration.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - EVELETH, D. F., BOLIN, D. W. & B. A. GOLDSBY — 1949 — Experimental Avitaminosis A in Sheep. *Am. J. Vet. Res.* 10:250-255.
- 2 - LUCAS, A. e col. — 1955 — Kérato-conjonctivite, manifestation d'avitaminose A dans un troupeau de moutons. *Rec. Med. Vet* 131: 665-669.
- 3 - SCHMIDT, H. — 1941 — Vitamin A Deficiencies in Ruminants. *Am. J. Vet. Res.* 2:373-389.
- 4 - SEN, K. C. — 1936 — *Ind. J. Vet. Sci. Anim. Husband.* 6:128, Apud, MOORE, T. — 1957 — Vitamin A — Elsevier Publishing Company.

MÉTODO DE ANALISE QUÍMICA
DE INSETICIDAS E FUNGICIDAS

por

Décio A. Souza e Nelson F. Almeida

Livro de grande utilidade para todos os que têm interesse no campo dos inseticidas e fungicidas. Nele são estudados os inseticidas e fungicidas, seus respectivos métodos analíticos, propriedades físicas e químicas, obtenção, decomposição, histórico, etc.

Preço — 150 cruzeiros (mais 25 cruzeiros para remessa sob registro).

Remessa de dinheiro, cheques ou vales postais, a favor
do Fundo de Pesquisas do Instituto Biológico.

Emprêgo do fumigante Fosfina (hidrogênio fosforado) no combate aos insetos de grãos armazenados

J. M. Coutinho, D. Puzzi e A. Orlando

Os insetos conhecidos por “carunchos” são encontrados nos grãos armazenados, na fase de ovos, larvas ou lagartas, pupas e adultos, conforme a espécie, e são combatidos geralmente por fumigantes ou pela adição de inseticida em pó. A maioria desses produtos apresenta fatores negativos quanto às propriedades que deles se exigem, podendo-se destacar as que se referem à alterações do poder germinativo das sementes, eficiência sobre ovos e demais fases do desenvolvimento do inseto, resíduos tóxicos e alteração no aroma, gosto e aspecto de grãos destinados à alimentação. Acresce, ainda, que, para serem aplicados os fumigantes mais usados, são necessárias instalações custosas, como autoclaves, câmaras de expurgo ou aparelhos de ventilação, acarretando grandes despesas em mão de obra na movimentação da sacaria dentro dos armazéns e no transporte dos locais de beneficiamento para os de expurgo.

Figura na bibliografia que o fumigante, cujo princípio ativo é denominado Fosfina, ou seja o hidrogênio fosforado (PH₃) (1, 2, 3), tem se revelado com boas características, notadamente no que se refere à aplicação fácil e econômica. O produto apresenta-se no comércio sob a forma de comprimidos (tabletes), constituídos de mistura de fosfeto de alumínio e carbamato de amônio.

Em contato com a umidade do ar e dos grãos e sob a influência de maiores temperaturas, eles se decompõem, iniciando a gaseificação depois de 1 hora, completada 24 a 72 horas após, deixando um resíduo pulverulento, que contém ainda de 1-2% de fosfeto de alumínio não decomposto em relação ao peso de 3 g do comprimido. Tais resíduos, eventualmente existentes nos grãos após a fumigação, são mecânicamente removidos ou hidrolisados por ocasião da limpeza no beneficiamento, ou quando são aplicados em farinhas pelo cosimento da panificação.

Nos Estados Unidos foi admitido o emprêgo do gás hidrogênio fosforado no tratamento de cereais, desde novembro de 1958. Nas cervejarias de Berlim, também ficou constatado que o produto não apresentava influência prejudicial quanto à capacidade germinativa da cevada, com qualquer efeito nocivo posterior, quanto ao aroma, cor e tato, até seis meses após a aplicação.

Tendo em vista as citadas características do produto, procurando experimentá-lo em nossas condições.

Testes preliminares de laboratório

Iniciamos as experiências em laboratório, aplicando o fumigante contra os seguintes insetos: caruncho dos cereais (*Sitophilus oryzae*), caruncho do café (*Araecerus fasciculatus*), lagarta do algodão (*Platyedra gossypiella*) e lagarta do amendoim (*Corcyra cephalonica*).

(*) Trabalho apresentado na VII Reunião de Fitossanitaristas, do Rio de Janeiro e V Reunion Latinoamericana de Fitotecnia de Buenos Aires, Argentina.

Foram usadas diversas dosagens, variando o tempo de exposição em aplicações diretas sobre os insetos ou sobre o material infestado.

Utilizamos cubas de vidro, com dimensões de 20 cm de diâmetro por 24 cm de altura, capacidade de 7,5 litros. Em cada cuba colocamos os insetos dentro de vidros-testes, de forma cônica (8x10), abertos nas extremidades e cobertos em seguida com telas de algodão. Nesses vidros-testes foram colocados 50 insetos sobre grãos.

Sendo a dosagem comercial recomendada para o produto, de 15 comprimidos de 3 g por tonelada de grão, o que equivale a 3 comprimidos por metro cúbico, utilizamos 270 mg, correspondentes ao volume das citadas cubas.

Em seguida, fechamos as cubas com tampa de vidro, vedando hermêticamente com parafina e fitas de esparadrapo. Os frascos foram depois mantidos em temperatura de 18 a 21°C, durante os diversos períodos de exposição.

Na tabela I, verifica-se que a mortalidade dos insetos foi total (100%) desde o contato mínimo de 24 horas, enquanto as testemunhas permaneceram 72 horas, verificando-se que houve mortalidade entre 0-19%.

Testes em armazéns

Em face dos resultados obtidos em laboratório, resolvemos experimentar o produto em condições normais de armazenagem. Via de regra, as fumigações de grãos podem ser feitas de diversas maneiras: em grãos ensacados, a granel dentro de armazéns fechados ou silos, e ainda em vagões de estradas de ferro. Julgamos interessante iniciar essas experiências com grãos ensacados, por ser a forma mais comum em nosso sistema de armazenagem.

As aplicações foram feitas em Santos, Aguai, Bauru e Araçatuba, onde se encontravam infestações de grãos de café, sementes de algodão e de amendoim.

As experiências obedeceram critério de confronto quanto ao período de exposição, dosagens e sistema de cobertura de pilhas. No estudo de cada período de exposição, fizemos 4 repetições, empregando-se 50 insetos em cada vidro-teste, colocados no meio dos sacos com grãos, distribuindo os comprimidos em diversos locais de diferentes alturas e profundidades, fora dos sacos. Em seguida procedeu-se à cobertura das pilhas com encerado ou plástico, objetivando

Tabela I — Resultados da aplicação da Fosfina contra insetos de grãos, em testes de laboratório.

INSETO	TEMPO DE EXPOSIÇÃO (HORAS)	DOSAGENS MG EM 7,5 LITROS	PORCENTAGEM MÉDIA DO EFEITO LETAL		
			Ovos	Larvas	Adultos
<i>Sitophilus oryzae</i>	24	270	100	100	100
	48	270	100	100	100
	72	270	100	100	100
Testemunha	72	—	0	0	11
<i>Araecerus fasciculatus</i>	24	270	100	100	100
	48	270	100	100	100
	72	270	100	100	100
Testemunha	72	—	0	0	19
<i>Platyedra gossypiella</i>	24	250	—	100	—
	24	120	—	100	—
	24	50	—	100	—
Testemunha	24	—	0	20	—
<i>Corcyra cephalonica</i>	24	250	—	100	—
	24	120	—	100	—
	24	50	—	100	—
Testemunha	24	—	—	0	—

conhecer a eficiência dêstes materiais quanto à vedação do gás.

A temperatura sob a coberta variou de acôrdo com a localidade onde se havia instalado a experiência, ou seja entre 20° a 42° C.

Antes e depois da instalação dêsses ensaios, retiraram-se amostras constituídas de mistura de grãos de diversos sacos, para análise de germinação, nos casos de sementes, e de classificação de bebida, no caso do café.

Para verificar o efeito da fumigação sobre os ovos, larvas existentes dentro dos grãos, pupas, etc., retiramos amostras de grãos, antes e depois da operação de fumigação, levando-as em seguida ao insetário, onde permaneceram de 30 a 60 dias, em temperatura constante de 25°C, a fim de se poder constatar a procriação e efeitos letais sobre diversas fases do desenvolvimento dos insetos.

Na tabela II, encontram-se os resultados das experiências realizadas com as seguintes pragas: caruncho do café, lagarta rosada do algodão e lagarta do amendoim. Tais resultados referem-se às porcentagens médias de 4 repetições para cada tipo de tratamento, constatando-se que a experiência com a cobertura das pilhas feita com plástico foi a que produziu maior mortalidade. No en-

saio contra a lagarta do amendoim não foi possível repetir o ensaio com cobertura de plástico, por falta de material, motivo pelo qual só foi obtida a mortalidade total com 48 e 72 horas, enquanto que, para os outros insetos do café e do algodão, em pilhas cobertas com plásticos, obteve-se mortalidade total nas fases de ovos, lagartas, larvas e adultos em exposição de 24 horas.

Devido à proteção dada pela casca do amendoim, naturalmente torna-se difícil a penetração de gás. Em amostra de material que havia sido expurgado com Brometo de Metila em autoclave, depois de ter sido conservada no insetário em igualdade de condições de temperatura e tempo, pudemos constatar a existência também de lagarta viva na mesma proporção.

As testemunhas dos diversos ensaios apresentaram mortalidade variável de 0 a 34% para adultos e 0-30% para ovos, conforme a espécie. Justifica-se êsse resultado, pela dificuldade de procriação nas condições restritas das amostras retiradas.

Nas análises de germinação das sementes de algodão e amendoim, verificou-se que não houve influência prejudicial dos tratamentos. Os exames de classificação e provas de xícara das

Tabela II — Resultados da aplicação do fumigante Fosfina contra insetos de grãos ensacados, sob tenda.

INSETO	TEMPO EXPOSTÃO (horas)	DOSAGENS (de 3g) p/ton.	PORCENTAGEM MÉDIA DE EFEITO LETAL					
			ENCERADO			PLÁSTICO		
			Ovos	Larvas	Adultos	Ovos	Larvas	Adultos
<i>Araecerus fasciculatus</i>	24	15	100	100	86	100	100	100
	48	15	100	100	98	—	—	—
	72	15	100	100	100	—	—	—
	96	15	100	100	99	—	—	—
	96	—	0	—	34	0	—	0
<i>Platyedra gossypiella</i>	24	15	100	72	—	—	—	—
	24	—	98	97	—	—	—	—
	24	—	30	5	—	—	—	—
	24	16	—	—	—	100	100	—
	24	—	—	—	—	—	13	—
<i>Corcyra cephaonica</i>	24	30	99	98	—	—	—	—
	48	30	76	100	—	—	—	—
	72	30	73	100	—	—	—	—
	72	—	0	21	—	—	—	—
	72	—	—	—	—	—	—	—

amostras de café, realizados em três laboratórios diferentes, revelaram não ter havido qualquer alteração no gosto e aroma da bebida dos grãos utilizados na fumigação.

Reinfestação

As pilhas de sacos de grãos de café e de amendoim, por haver perigo de novas infestações, foram polvilhadas com inseticidas específicos. Quando certas espécies de grãos permanecem armazenados por longo período de tempo, é recomendável que sejam feitas novas fumigações de três em três meses.

Conclusões

- 1 — O fumigante Fosfina apresentou-se com alta eficiência, no controle das seguintes pragas: *Araecerus fasciculatus* em grãos de café e *Platyedra gossypiella* em sementes de algodão. Verificamos ser o produto altamente eficaz contra essas pragas, nas fases de ovos, larvas e adultos, quando aplicado na dosagem comercial, em temperatura mínima de 20°C, exposição de 24 horas e vedação do gás com material plástico.
- 2 — Nas experiências conduzidas sob as mesmas condições técnicas, porém, usando-se encerado na vedação do gás, não se conseguiu mortalidade total das citadas pragas. Resultados análogos foram registrados nas experiências feitas nas mesmas condições, contra a praga do amendoim, *Corcyra cephalonica*, em que se conseguiu obter mortalidade total, unicamente na fase de lagarta, e com exposição de 48 horas e dosagem mais elevada.
- 3 — As análises de germinação de sementes de algodão e amendoim e classificação de bebida dos grãos de café, revelaram não ter havido qualquer alteração prejudicial.
- 4 — Verifica-se ser esse fumigante de aplicação econômica, devido ao sistema de vedação do gás com material plástico, que se amolda a

qualquer formato de pilha dos sacos já armazenados, não exigindo instalações de expurgo, despesas com movimentação e transporte da sacaria.

- 5 — Experiências com outros insetos, poderão exigir outras condições quanto às dosagens, período de exposição, temperatura, etc., tendo em vista os resultados obtidos em nosso trabalho.

Cuidados

Os processos de aplicação do fumigante não apresentam perigo, apesar de ser a Fosfina extremamente tóxica também para os animais de sangue quente, devendo ser evitada a inalação pelo homem, até em pequenas quantidades. Os gases apresentam cheiro característico, sendo facilmente percebidos.

A aplicação da Fosfina deve ser feita dentro de 1 hora, a contar do momento em que se abre a embalagem dos comprimidos, quando então há necessidade de uso de máscara contra gases, equipadas com filtro.

Após a colocação dos comprimidos nos depósitos, silos, etc., os locais contíguos devem ficar isolados, para evitar que pessoas penetrem sem estarem munidas de máscaras. Para evitar acidentes deve-se colocar avisos nos locais de acesso. Após o período de exposição, todas as portas, janelas, etc., devem ficar abertas durante 6 horas, no mínimo, a fim de ser efetuada uma ventilação completa.

As manifestações de sintomas de envenenamento: enjôo, dor de cabeça, vômito e tonturas — deve-se expor imediatamente as pessoas intoxicadas ao ar fresco. Se os sintomas de envenenamento não desaparecerem logo, chamar um médico.

Agradecimentos

Agradecemos aos engenheiros agrônomos C.S. Pessenda, J. Francês, D. D'Angelo e L. Seixas, aos senhores V.O. Borges, B. Ribeiro, aos funcionários dos Postos de Sementes e dos Armazéns de Importação da Estrada de Ferro Santos-

Jundiaí, pelos auxílios prestados na instalação das experiências; à Delta Soc. Com. Ltda., pelo fornecimento do produto DELICIA, fabricado pela Chemische Fabrik Delitia, Alemanha.

BIBLIOGRAFIA

1 — HESELTINE, H. R. & R. H. THOMPSON —

1959 — The use of aluminium phosphide tablets for the fumigation of grain — *Rev. Appl. Ent.* 47:307-309.

2 — LINDGREN, D. L., L. E. VINCENT & R. G. STRONG — 1958 — Studies on Hydrogen phosphide as a fumigant — *J. Econ. Entom.* 51: 900-303.

3 — STRONG, R. G. & D. L. LINDGREN — 1960 — Germination of cereal, sorghum, and small legume seeds after fumigation with hydrogen phosphide — *J. Econ. Entom.* 53:1-4.

TRATADO DE DOENÇAS DAS AVES

por

Reis, Nobrega e colaboradores

4 volumes em 2 tomos, com 844 páginas e 599 ilustrações.

Preço — 950 cruzeiros (Mais 25 cruzeiros para remessa sob registro).

*Remessa de dinheiro, cheques ou vales postais a favor
do Fundo de Pesquisas do Instituto Biológico.*

Experiências para combater “verruga” do cafeeiro com inseticidas sistêmicos

W. O. Heinrich e J. B. M. Araújo

Cerococcus catenarius Fonseca, é praga que vem, há alguns anos preocupando técnicos e lavradores de alguns municípios de São Paulo (3), e de extensa região do Norte do Paraná (6).

Estudados e verificados certos aspectos da sua biologia, tratou o primeiro autor de estudar o seu combate por meios químicos, na fase em que a forma jovem do inseto, abandonando a carapaça materna, fixa-se em galhos ainda vivos e inicia sua alimentação, sugando a seiva da planta. Em 1958 (5), após experimentos realizados no município de Jaú, SP, verificou-se a possibilidade do seu combate com pulverizações de produtos químicos; foi conseguida a redução da praga em escala amplamente satisfatória.

Revelou-se o *C. catenarius* material favorável a experiências de competição de inseticidas, por apresentar uma única geração anual, o que previne a possibilidade de reinfestação dentro do período do mesmo ciclo vital e ainda pela impossibilidade de locomoção do inseto, depois de fixado na parte viva dos galhos, pela atrofia de seus órgãos locomotores.

Tais fatos levaram o primeiro autor a considerar a conveniência da realização de experiências com inseticidas sistêmicos no combate à praga. Não se visou, propriamente, resultados imediatos, que dessem margem ao combate em grande escala, visto que as experiências anteriores revelaram controle satisfatório, com outros produtos. Pretendeu-se, mais, verificar a atuação de inseticidas sistêmicos sobre pragas su-

gadoras da parte aérea de cafeeiros desenvolvidos ou mesmo já velhos. Provém o interesse dessa constatação do fato de ser o cafeeiro atacado por várias outras pragas sugadoras, pertencentes também, como o *C. catenarius*, à superfamília *Coccoidea*, e que atacam o cafeeiro no Brasil, assim como em outros países latino-americanos (7).



Figura 1 — Galho de cafeeiro atacado pelo *C. catenarius*.

Materiais e método

Localização e delineamento da experiência — Localizou-se a experiên-

(*) — Os autores agradecem ao proprietário, assim como ao administrador da fazenda, as facilidades oferecidas ao seu trabalho.

cia na Fazenda Santana, município de Jaú, propriedade do Dr. J. S. Brandão Filho (*). O talhão escolhido situa-se junto a rodovia Jaú-Bauru, não pavimentada, propiciando condições para o desenvolvimento da praga (6).

Deu-se preferência a um esquema de blocos ao acaso, com cinco tratamentos repetidos seis vezes, constituindo-se cada parcela de dois cafeeiros; e considerou-se a testemunha como um dos tratamentos.

Inseticidas — Foram usados dois produtos: octa-metil-pirofosforamida — OMPA — e tiofosfato de dimetil-etil-mercaptop-etílico — Metasistox.

OMPA foi o primeiro sistêmico de interesse prático agrícola descoberto, tendo sobre outros produtos a vantagem de não prejudicar grande número de inimigos naturais das pragas combatidas; todavia, tem ação fraca como inseticida de contacto (1). Metasistox é de uso generalizado nas plantações de algodão, tendo efeito decisivo sobre os insetos sugadores que atacam a cultura na fase inicial de seu desenvolvimento — principalmente pulgão e trips, além de efeito acaricida sobre o ácaro vermelho.

Via de aplicação — Os inseticidas sistêmicos têm sido aplicados de diferentes formas nas culturas: por pulverização ou pincelagem da parte aérea das plantas (fôlhas, galhos e caule); por injeção no caule; e por tratamento das sementes destinadas ao plantio.

Dêstes diferentes métodos escolheu-se, como mais viáveis para a cultura do cafeeiro, o da pulverização da parte aérea das plantas e o da rega do solo, abaixo da saia dos cafeeiros; por conve-

niência da experiência, as pulverizações foram feitas a baixo volume.

Dosagens e aplicação — OMPA foi aplicado em pulverizações a baixo volume, na dosagem de 0,5% de produto ativo; na rega, foi aplicado a 0,1% de produto ativo, usando-se um volume de diluição cerca de cinco vezes superior ao da pulverização; na preparação das diluições partiu-se, em ambos os casos, do concentrado emulsionável a 67% de produto ativo.

Metasistox foi aplicado em pulverização a baixo volume, na dosagem de 0,05% de produto ativo, empregando-se cerca de cinco vezes o volume de diluição empregado na pulverização; em ambos os casos, partiu-se do concentrado emulsionável, a 50% de produto ativo.

Foram efetuadas três aplicações: em 17 de setembro, 8 de outubro e 5 de novembro de 1959, ou seja com intervalo de 20 a 30 dias entre dois tratamentos consecutivos.

As quantidades de princípio ativo, usados em cada tratamento, foram: OMPA, pulverização — 39,50 cc; OMPA, rega — 54,00 cc; Metasistox, pulverização — 22,38 cc; Metasistox, rega — 28,00 cc; as quantidades correspondentes para aplicação em 1.000 cafeeiros são apresentadas na tabela I.

Amostragem — Adotou-se o mesmo método de amostragem usado em trabalho anterior de Heinrich (5). Apenas em vez de colher 5 pedaços de galho em duas plantas, foram colhidas 6, também em duas plantas (3 em cada). Esses fragmentos eram retirados de ramos onde haviam carapaças das cochonilhas da geração anterior. A

Tabela I — Resultados da aplicação de inseticidas sistêmicos no combate ao *C. catenarius* em cafeeiros.

INSETICIDA	VIA DE APLICAÇÃO	QUANTIDADE EM CC DE PRINCÍPIO ATIVO POR MIL PES	MÉDIA DE INSETOS VIVOS POR AMOSTRA	PORCENTAGEM DE REDUÇÃO, EM RELAÇÃO À TESTEMUNHA
Metasistox	Pulverização	1.870	97,0	68,2
Metasistox	Rega	2.330	154,7	49,4
OMPA	Pulverização	6.580	132,0	56,8
OMPA	Rega	4.500	152,0	50,2
Tetestemunha	—	—	305,3	—

partir dessas, e em direção ao ponteiro do galho, tomavam-se fragmentos de 30 cm de comprimento, desbastando-se o que ultrapassava esta medida. Os 180 fragmentos, de mesmo comprimento, foram levados para o laboratório e examinados à binocular, contando-se, para efeito dos cálculos, unicamente os insetos vivos.

Resultados

Os resultados são apresentados na tabela I. Na tabela, encontram-se além de outros dados, as médias de insetos vivos por parcela, em cada tratamento, acompanhados pelas porcentagens de redução em relação à testemunha; o gráfico apresenta os dados da primeira coluna de tabela e a significância estatística dos resultados.

Efetuiu-se uma análise de contraste, examinando-se as várias funções lineares dos totais que apresentavam interesse. De todas essas funções, apenas a que agrupou todos os tratamentos químicos em relação à testemunha é que apresentou significância para a relação Z^2/D .

Conclusões

Demonstrou a experiência ter havido controle da praga pelos inseticidas usados. Não houve diferença significativa entre os inseticidas experimentados e nem entre os métodos empregados (regia e pulveriação). Houve, entretanto, diferença significativa entre os tratamentos químicos e a testemunha.

O teste de "F" foi significativo ao nível de 5% ($F = 3, 45$).

Fica, pois, verificada a possibilidade de se combater insetos que sugam a seiva do cafezal na sua parte aérea, mesmo quando este é velho, como o da experiência, por meio de inseticidas sistêmicos.

No caso particular do combate ao *C. catenarius*, a confrontação das porcentagens de redução da praga, mediante o uso dos sistêmicos da experiência, com os resultados obtidos em experiência de inseticidas fosforados não sistêmicos (5), parece demonstrar dever-se preferir estes últimos, ressalvado o fato dos resultados terem sido obtidos em experiências não comparáveis.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BROWN, A. W. A. — 1951 — Insect control by chemicals: Nova York — John Wiley & Sons, Inc. pp. 16-17.
- 2 — CONAGIN, A. — 1957 — Princípios de técnica experimental e análise estatística de experimentos: 27-29. Campinas (Mimeografado).
- 3 — FONSECA, J. P. — 1957 — Três novas espécies de coccídeos do Brasil, sobre cafeeiro (*Homoptera* — *Coccidae*). *Arq. Inst. Biol. S. Paulo*, 24: 123-135.
- 4 — TOLEDO, F. F. — 1958 — Contribuição ao estudo da ação de inseticidas sistêmicos no algodoeiro. Tese de doutoramento — Piracicaba — (Mimeografado).
- 5 — HEINRICH, W. O. — 1959 — Contribuição para o conhecimento dos hábitos e do combate ao *Cerococcus catenarius* Fonseca, 1957, praga do cafeeiro. *Biológico* 25: 71-79.
- 6 — HEINRICH, W. O. — 1959 — O *Cerococcus catenarius* no Paraná. *Biológico* 25: 121-123.
- 7 — HEINRICH, W. O. — 1960 — Resumen de conocimientos actuales sobre entomología económica del café. Tese de relator apresentada a "I Reunion Técnica Interamericana de Café". Bogotá (Mimeografado) 10 pp.

Notas e Informações

PROGRAMA GERAL DE PULVERIZAÇÕES PARA PLANTAS CÍTRICAS

Em reunião realizada em setembro último, a Comissão Técnica de Citricultura da Secretaria da Agricultura aprovou um novo programa geral de pulverizações para plantas cítricas, baseado no calendário de pulveriza-

ções publicado anteriormente nesta revista e nos conhecimentos mais recentes, sobretudo no que se refere ao controle de insetos e ácaros, conforme o esquema seguinte:

<i>Doenças ou Praga</i>	<i>Produtos e suas concentrações por 100 litros de água ou do preparado</i>	<i>Observações</i>
verrugose melanose cochonilhas	calda bordalêsa — 1:1:100; ou produtos cúpricos equivalentes, em mistura com óleo emulsionável — 1 litro	Antes da florada ou logo após a queda das pétalas. Nas infestações severas fazer as duas pulverizações. Não havendo cochonilha, dispensar o óleo.
ferrugem (ácaros) falsa melanose	Dithane Z-78 — 120 g; ou enxôfre molhável — 600 g; ou calda sulfocálcica — 1,5 litros	Somente depois de constatar a presença de ácaros (usar lente de 10 aumentos). Dithane pode ser aplicado misturado com óleo.
leprose (ácaros)	enxôfre molhável — 600 g; ou Kelthane W — 200 g	Nos focos, quando aparecem as primeiras manchas nas folhas. Kelthane pode ser aplicado misturado com óleo.
outros ácaros	enxôfre molhável — 600 g; ou Trithion P.M. — 200 g; ou Ethion E. — 120 g; ou Kelthane W — 200 g	Somente depois de constatar a presença de ácaros (usar lente de 10 aumentos).
cochonilhas	óleo emulsionável — 1 litro	Não aplicar quando os frutos têm 2-4 cm de diâmetro. Distanciar 20 dias da aplicação de enxôfre.
môscas das frutas	Malatox-50 — 400 g; ou Dieldrin-50 — 200 g; ou Dipterex — 200 g em mistura com melaço — 4 quilos	Aplicar só em 1 m ² da copa, por aspersão com brocha ou pulverizador. Repetir cada 10 dias após o início da infestação, constatada com caça-môscas.

Além das doenças e pragas mencionadas neste programa, outras podem estar presentes no pomar cítrico e devem ser combatidas. Procurar o Engenheiro Agrônomo Regional ou Fitossanitarista para indicar os tratamentos necessários.

A eficiência das 5 primeiras pulverizações mencionadas depende do perfeito recobrimento dos frutos e folhas, devendo o produto alcançar também a parte interna da árvore.

ANALISES DE INSETICIDAS E FUNGICIDAS NOS LABORATÓRIOS DO INSTITUTO BIOLÓGICO

Pelo decreto n.º 39.143, de 29 de setembro último, foi fixado pelo Governador do Estado os preços a serem cobrados pelo Instituto Biológico pelos serviços de análises de inseticidas e fungicidas, que são os seguintes:

1) Anhidrido arsenioso	400,00
2) Arseniato de cálcio	300,00
Unidade	600,00
Oxido de cálcio total	600,00
Anhidrido arsênico total	600,00
Anhidrido arsênico solúvel	600,00
3) Arseniato de chumbo	300,00
Unidade	600,00
Oxido de chumbo total	600,00
Anhidrido arsênico total	600,00
Anhidrido arsênico solúvel	800,00
4) Aldrin	700,00
5) B H C (hexaclorociclohexana) Isômero gama (método, polarográfico)	600,00
6) Cianeto de potássio ou de sódio	800,00
7) Clordano	800,00
8) Calda bordalesa	500,00
Cobre total	800,00
9) DDT (diclorodifeniltricloroetano) total	1.000,00
pp — DDT	800,00
10) DDD (diclorodifenildicloroetano) DDD total	800,00
11) Dieldrin	800,00
12) Dithane, Zineb, Nabam, etc.	1.000,00
Etileno bis-ditiocarbamato de zinco	1.000,00
Etileno bis-ditiocarbamato de sódio	1.000,00
Dimetilditiocarbamato de zinco	800,00
13) Endrin	700,00
14) Fumo, extrato de fumo e sulfato de nicotina	1.000,00
Nicotina	400,00
15) Metaldeído	500,00
16) Metaxicoloro total	800,00
17) Óleo mineral miscível	500,00
18) Cloreto de cobre	200,00
Cobre total	400,00
19) Oxido cuproso	200,00
20) Óleo mineral	1.000,00
Parte não sulfonável	500,00
21) Paration	800,00
22) Pentaclorofenol e derivados	800,00
23) Paradiclorobenzol	800,00
24) Pó inerte (para diluição de inseticidas)	300,00
pH	500,00
Densidade absoluta	300,00
Densidade relativa	200,00
Mobilidade	400,00
Parte não inflamável	200,00
Absorção	500,00
25) Sulfato de Cobre	500,00
Cobre total	500,00
26) Sulfureto de carbono	300,00
Pêso específico	400,00
Gás sulfídrico	400,00
Resíduo	800,00
27) Toxareno	600,00
28) Verde Paris	600,00
Oxido de cobre total	600,00
Anhidrido arsenioso combinado	600,00
Anhidrido arsenioso livre	600,00
Anhidrido arsenioso solúvel	600,00
Sulfato de sódio	600,00
Anhidrido acético	600,00

Nota: — Os casos omissos serão resolvidos pelo Diretor Geral do Instituto Biológico, da Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura.

São Paulo, 29 de Setembro de 1961.

Notícias do Instituto Biológico

REUNIÃO DE FITOSSANITARISTAS

● Na tradicional Reunião de Fitossanitaristas, promovida pela Divisão de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura e realizada no Rio de Janeiro, participaram os seguintes técnicos, que fizeram contribuições: Dr. J. M. Coutinho — “Experiência sobre emprego de fosfina como fumigante”; Dr. P. Pigatti — “Técnica de determinação dos metabólitos ativos no Thimet, Disyston e Metasystox em material de plantas”; Dra. A. Pigatti — “Determinação de resíduos de Metasystox e Ekatim em tubérculos de batatinha quando aplicados na folhagem”; Dr. M. Fadigas Jr. — “Novos inseticidas para controle das pragas do algodoeiro”; Dr. Suplicy Filho — “Inseticidas sistêmicos em sementes de amendoim, visando o controle de trips”; Dr. J. Franco do Amaral — “A permeabilidade de antibióticos na polpa dos tubérculos de batatinha”.

Participou também da reunião o Dr. E. R. Figueiredo Junior, Diretor da Divisão de Defesa Vegetal e executor do Acôrdo Fitossanitário existente entre o Ministério da Agricultura e o governo paulista.

REUNIÕES CIENTÍFICAS

● Prosseguindo na série de reuniões científicas dos técnicos do Instituto, foram convidados como conferencistas o Prof. Mario D'Apice, que falou sobre “Pesquisa e ensino da Veterinária”, e Prof. Candido Oliveira, sobre “O Cientista e sua arma de divulgação”.

FUNDO DE PESQUISAS

● Teve lugar mais uma reunião do Fundo de Pesquisas do Instituto, durante a qual os conselheiros reviram os projetos de trabalho em andamento e dotações destinadas ao desenvolvimento dos mesmos. Nessa oportunidade, foi decidido que o Diretor Geral do Instituto solicitasse a colaboração das associações da classe rural, no sentido de receber a colaboração das mesmas para novos projetos relativos aos problemas de defesa sanitária animal e vegetal.

PALESTRAS DOS TÉCNICOS

● Participando da “Jornada Veterinária”, promovida pelo Centro Acadêmico “Guilherme Hermsdorff” da Escola Nacional de Veterinária, o Dr. C. A. Santa Rosa, assistente da

Seção de Bacteriologia, fez uma palestra sobre “Leptospiroses”.

● No município de Bastos, grande centro avícola paulista, o Dr. Rafael C. Bueno, chefe da Seção de Ornitopatologia, pronunciou uma série de palestras e demonstrações sobre combate às doenças das aves.

● Atendendo a convite da CAMIG, de Minas Gerais, o Dr. J. Abrahão deu aulas sobre doenças de algodão para um grupo de agrônomos da entidade. O mesmo técnico e o Dr. R. Elias, fitossanitarista de Ribeirão Preto, fizeram palestras sobre ramulose do algodão e pragas dessa cultura, em Jardinópolis.

CURSO DE SOROLOGIA

● O Dr. O. Suga, assistente da Seção de Imunologia, frequentou durante uma semana o Curso de Sorologia organizado pelo Centro Pan-Americano de Febre Aftosa, no Rio de Janeiro, GB.

FALECIMENTO

● Consignamos, com pesar, o passamento do servidor Oswaldo Coelho, que prestava sua colaboração à Seção de Produtos Veterinários, e anteriormente ao Setor de Vidraria, sempre revelando dedicação e qualidades de bom funcionário.

VISITAS AO INSTITUTO

● Dr. J. S. Porterfield, do National Institute of Medical Research, em Mills Hill, Londres, em companhia do Dr. Luiz Augusto Ribeiro do Valle, chefe da Seção de Vírus do Instituto Adolpho Lutz.

● Dr. Roberto Gebaia, do gabinete do Secretário da Saúde.

● Vinte alunos da Escola Normal Municipal de Santo Anastácio, acompanhados pela prof. Zoraide Antunes Costa; 8 alunos do Colégio Arquidiocesano, da Capital; 28 alunos do Colégio “Dr. Octavio Mendes”; 40 alunos do Colégio “Presidente Roosevelt”, Capital acompanhados dos profs. Clemente M. de Bedia e Maria Pereira Rocha; 24 alunas da Associação de Moças de Suzano, em companhia do prof. Nobuyuki Kikutí; alunas do Instituto de Educação de Americana, com as profs. Lucy Aparecida Pagotto e Ivonilda Galassi.



**PROTEJA ECONÔMICAMENTE
O SEU CAFÉZAL...**

Dioldrex 20

É a Solução Contra a Broca do Café

Quando o problema é combater as pragas, um fator importante além da eficiência do inseticida é a economia do tratamento. Com Dioldrex 20, você estará atingindo esses dois objetivos, pois, a par do seu elevado poder inseticida, Dioldrex 20 possibilita um perfeito controle da broca do café com uma ou, no máximo, duas aplicações.

Para maiores informações

SHELL BRASIL S.A. [Petróleo]

Rio - Praça Pio X, 15; São Paulo - Rua Conselheiro Nébias, 14
P. Alegre - Rua Uruguai, 155; Recife - Rua do Imperador, 207

NA AGRICULTURA E NA INDÚSTRIA

PRODUTOS QUÍMICOS



É MORTE CERTA PARA PRAGAS
DO ALGODOEIRO

— NOVO, ZETAPÓ

— único que contém
o moderno acaricida **TRITHION®**

Pela primeira vez no Brasil surge um produto 100% eficiente no combate aos ácaros do algodoeiro. Controla eficientemente o curuquerê, pulgão, tripses, percevejos e lagarta da maçã. ZETAPÓ Agrobras, mistura Trithion-DDT — é um pó finíssimo e muito leve que reveste todas as partes da planta. Lançado com excelentes resultados na safra passada, provou ser uma garantia para a lavoura de algodão!

® TRITHION — marca registrada da
STAUFFER CHEMICAL COMPANY, EUA



CONSULTE O NOSSO AGENTE LOCAL OU O CONSULTOR DA REGIÃO

Produzido e
garantido pela

agrobras s.a.



Rua Benjamin Constant, 158 - Tel. 35-4540 e 35-6818 - Cx. Postal 7758
Enderêço Telegráfico: AGROBRASSA - São Paulo

INSETICIDAS

QUIMBRASIL



LADRÕES DE COLHEITAS
ROUBAM O SEU LUCRO



ASSEGURE A SUA RENDA
CONTROLANDO AS PRAGAS



Máxima qualidade
expressa nas marcas:

- ★ **HEXASON**
- ★ **HEXATHION**
- ★ **KLOROSON**
- ★ **OCTASON**
- ★ **TOXASON**

Contra as pragas
da lavoura

Levam a garantia da

QUIMBRASIL - Química Industrial Brasileira, S. A.

Rua São Bento, 308 — 9.º andar — Telefone 37-8541 — São Paulo

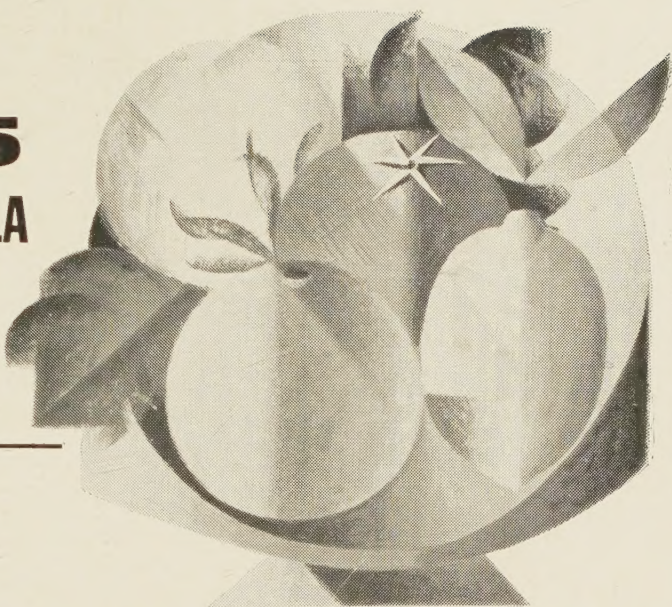
Rua Marechal Floriano, 237
C. P. 564 - Tels. 4-7249 - 4-5995
Curitiba

Rua Teófilo Ottoni, 15
C. P. 1190 - Tel. 52-4000
Rio de Janeiro

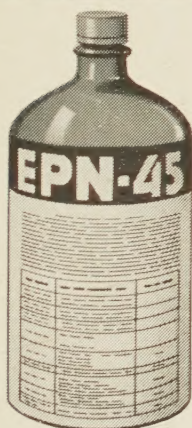
Rua Voluntários da Pátria, 3303
C. P. 1159 - Tels. 9-2008 - 2-2186
Porto Alegre



**AGORA V. PODE
CONTAR COM
EPN-45
EM NOVA FÓRMULA
LÍQUIDA
EMULSIONÁVEL**



*para maior rendimento,
melhor qualidade
em suas culturas de
algodão, tomates, pomares cítricos*



EPN-45 INSETICIDA
ORGÂNICO
FOSFORADO

FÓRMULA LÍQUIDA EMULSIONÁVEL — MAIS EFICIENTE, MAIS ECONÔMICA
EPN-45 é solúvel em água e permite uma mistura mais homogê-
nea para pulverizações. Mais econômico e concentrado, EPN-45
garante ação mais rápida e efeito residual mais duradouro.

PROTEÇÃO COMPLETA

para ALGODÃO — contra o ácaro branco, aranha
vermelha e o curuquerê • TOMATEIROS — contra
aranha vermelha, tripses, "vaquinhas" e a broca do fruto • POMARES CÍTRICOS
— contra o ácaro branco, cochonilhas e "vaquinhas".

Preencha e remeta-nos o cupom ao lado. Nós lhe en-
viaremos folhetos técnicos sobre o EPN-45 — inteira-
mente grátis, e sem qualquer compromisso.

EPN-45 é um produto da



DU PONT DO BRASIL S. A. — INDÚSTRIAS QUÍMICAS

S. PAULO: CAIXA POSTAL 8118 — RIO: CAIXA POSTAL 710

COISAS MELHORES PARA VIVER MELHOR...

GRAÇAS À QUÍMICA

NOME _____

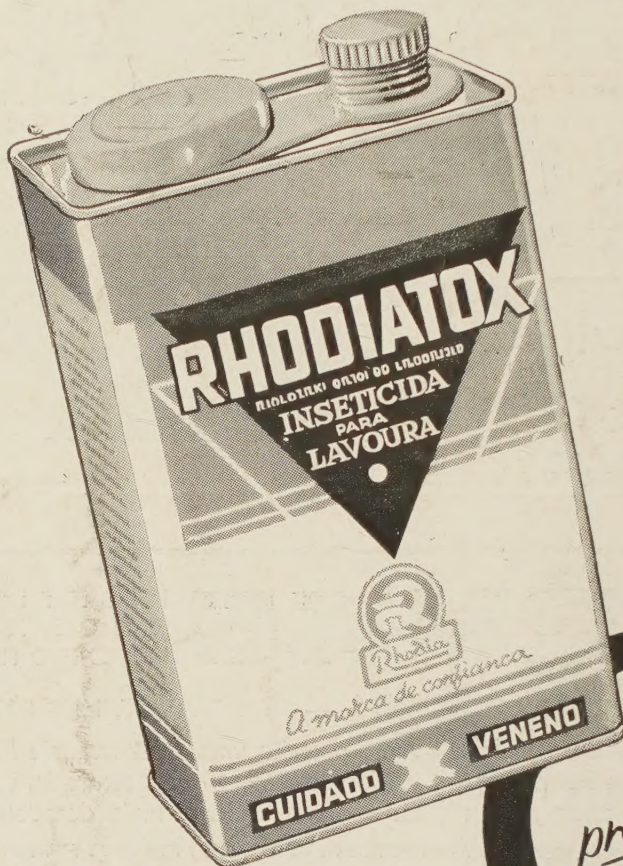
ENDEREÇO _____

CIDADE _____

ESTADO _____

TIPOS DE PLANTAÇÃO _____

RHODIATOX



um
produto
de
qualidade
RHODIA

acaba
com as pragas
da lavoura!

econômico
prático
fulminante

...e lembre-se:
Qualidade
também é
economia!



A marca de confiança

TAMBÉM A SERVIÇO DA LAVOURA

CIA. QUÍMICA RHODIA BRASILEIRA

DEPARTAMENTO AGROPECUÁRIO

Rua Líbero Badaró, 119 - 4.º and. - Tel 37-3141 - C. Postal, 1329 - S. Paulo - SP